Ascidies: « salissures » marines et indicateurs biologiques (métaux, hydrocarbures) ¹

par Françoise Monniot, Pierre-Jean Giannesini, Jean Oudot et Marie-Louise Richard

Résumé. — Les avantages des ascidies, animaux fixés, filtreurs, comme indicateurs biologiques en milieu marin, sont démontrés dans six stations des côtes de la Manche, de l'Atlantique et de la Méditerranée. Des métaux (Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd) sont dosés dans l'eau, le sédiment, les tissus et les contenus digestifs de plusieurs espèces d'ascidies prélevées dans les ports de plaisance et une exploitation conchylicole, considérée comme un site propre. Les hydrocarbures ont été recherchés dans les tissus d'ascidies pour les mêmes stations et des pollutions anciennes ou récentes par des produits pétroliers ont été mises en évidence, sauf dans le site propre de référence. Les ascidies se révèlent être de meilleurs indicateurs de pollutions que les mollusques. Le cosmopolitisme des espèces étudiées pourrait permettre l'utilisation des ascidies comme indicateurs biologiques en mer dans toutes les zones d'activité humaine.

Abstract. — The advantages of ascidians as marine biological indicators, sessile, and filter-feeding, are proved in six stations along the coasts of the Channel, the Atlantic and the Mediterranean sea. Metals (Fe, Mn, Cu, Zn, Pb, Cd) were dosed in sea-water, sediment, tissues and digestive contents of several ascidian species collected in harbours and a shell-farm, considered as a clean site. Hydrocarbons have been searched out in ascidian tissues at the same localities and past or recent oil pollutions have been detected except in the Mediterranean lagoon. Ascidians are revealed to be better indicators than molluscs. The cosmopolitism of the species studied here allows the use of ascidians as marine biological indicators in any area of human activity.

F. Monniot, Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins et Malacologie, Muséum national d'Histoire naturelle, 55, rue Buffon, 75005 Paris.

P.-J. GIANNESINI, Laboratoire de Géologie, Muséum national d'Histoire naturelle, 43, rue Buffon, 75005 Paris. J. Oudot, Laboratoire de Cryptogamie, Muséum national d'Histoire naturelle, 12, rue Buffon, 75005 Paris, M.-L. RICHARD, Laboratoire de Spectrochimie, ORSTOM, 70, route d'Aulnay, 93140 Bondy.

Les ascidies sont des animaux fixés à l'état adulte, filtreurs, vivant exclusivement en milieu marin. Ils occupent tous les milieux, de la surface aux plus grandes profondeurs, ayant une préférence pour les substrats durs. Beaucoup d'espèces supportent les pollutions. Les ascidies constituent l'une des principales salissures marines (R. H. MILLAR, 1969).

Les ascidies ont une forme de sac percé de deux orifices dont l'un permet l'entrée du courant d'eau qui traverse l'animal, l'autre sa sortie. La paroi externe des animaux est constituée d'une tunique cellulosique plus ou moins épaisse doublée d'un manteau. Dans

^{1.} Cette étude a été réalisée grâce à une aide de la Mission de la Recherche n° 840706 du Secrétariat d'État auprès du Ministre des transports chargé de la Mer.

cette enveloppe est suspendu un sac perforé, de structure plus ou moins compliquée, dont les orifices ou stigmates sont ciliés. Cette branchie sécrète intérieurement un film de mucus qui la recouvre entièrement. L'eau aspirée à travers le siphon buccal grâce aux battements ciliaires des perforations branchiales traverse en premier lieu Ie filtre muqueux sur lequel toutes les particules sont retenues ainsi que les grosses molécules (Monniot F., 1979b et c), passe à travers les stigmates branchiaux dans la cavité péribranchiale et est rejetée à l'extérieur par le siphon cloacal.

Le film muqueux (et les particules qui y adhèrent) chemine de façon continue et latéralement sur la paroi interne de la branchie, depuis l'endostyle où il est sécrété jusqu'à la ligne dorsale où il est agglutiné et enroulé en cordon qui pénètre dans le tube digestif (Mon-NIOT F., 1979d). Les fèces sont éliminées avec l'eau filtrée.

Les ascidies n'ont pas de possibilité de tri des particules ingérées; seules les plus grosses sont rejetées au niveau de tentacules situés à l'entrée du siphon buccal. Il n'y a pas d'organes excréteurs spécialisés dans ce groupe, l'excrétion est assurée par des cellules circulantes, qui transportent les déchets vers le manteau, la branchie ou la tunique où ils sont stockés.

Le mode d'excrétion par accumulation, le régime filtreur des animaux sont deux facteurs particulièrement intéressants pour des indicateurs biologiques. De plus les ascidies ont des affinités particulières pour les métaux lourds.

Dans les zones d'activité humaine, ports de commerce ou de plaisance, conchyliculture, circuits de refroidissement industriels, enrochements artificiels..., l'apport de substrats durs, l'enrichissement en matières organiques et la modification locale de l'hydrodynamisme provoquent le développement de populations d'ascidies qui peuvent servir d'indicateurs biologiques. Leur durée de vie est de plusieurs années pour un individu ou une population et leur abondance est grande; certaines espèces sont présentes et actives toute l'année et leur récolte est aisée. Beaucoup d'espèces sont très largement réparties, certaines sont cosmopolites.

I. CONDITIONS D'ÉTABLISSEMENT ET DE MAINTIEN DES ASCIDIES EN MILIEU AMÉNAGÉ

Les exigences écologiques fondamentales des ascidies (salinité élevée, immersion permanente et pas d'exposition à une insolation directe) sont satisfaites dans la plupart des aménagements de conchyliculture suspendue et des installations portuaires de plaisance.

Les exigences concernant le substrat sont plus discriminatoires. Les différentes espèces ne réagissent pas de la même façon. Les espèces coloniales encroûtantes se développent sur tous les types de supports : algues (laminaires surtout), invertébrés divers dont les ascidies, matières plastiques, surfaces métalliques, bois, béton, cordages, etc. Les espèces formant de grandes populations en grappes, comme les *Ciona, Ascidiella* ou *Styela*, se fixent également sur toutes sortes de supports mais ne peuvent pas toujours s'y maintenir, le poids des animaux devenant excessif par rapport à la résistance des supports. Les ascidies se détachent alors par paquets et tombent sur le fond, où elles peuvent d'ailleurs survivre assez long-

temps. On observe fréquemment ce phénomène sur les laminaires, dans la Manche (pl. I, B), sur les cordages qui subissent des manipulations (pl. 1, C), sur des peintures de caissons flottants sous les pontons (pl. 1, A), sur les huîtres et moules en culture suspendue (pl. I, D). Le phénomène est important car il concerne des biomasses surprenantes. Une seule fronde de laminaire peut supporter à Saint-Servan, très communément, une dizaine de kilos d'ascidies.

Les surfaces métalliques semblent favorisantes (fer, aluminium, zinc). Les chaînes d'amarrage sont particulièrement recouvertes ainsi que les piliers métalliques soutenant les pontons (le béton semble moins favorable). Même les anodes en zinc immergées par les plaisanciers (pour protéger leurs hélices de la corrosion par effet de pile) peuvent être colonisées par les ascidies. Seul le cuivre semble avoir un effet répulsif.

Tous les types de matériaux sont susceptibles de porter des ascidies, les matières synthétiques aussi bien que les cordages en chanvre, les casiers en matière plastique ou à mailles métalliques, les étoffes, bouteilles, etc. Les supports très lisses comme le verre sont simplement colonisés plus lentement.

Un obstacle absolu à la fixation des ascidies (et à d'autres salissures) existe cependant : la présence de graisses ou hydrocarbures lourds qui protège totalement les substrats durs dans les ports.

La colonisation des aménagements entièrement nouveaux nécessite un certain délai qui peut atteindre plusieurs années. Cette durée est fonction du stock d'espèces dans les milieux naturels avoisinants. Dans la Manche ou l'Atlantique, la faune des ports correspond à la faune des fonds rocheux voisins. La colonisation est toujours rapide. En Méditerranée, les espèces d'ascidies qui vivent dans les ports sont rares ou même absentes des fonds rocheux proches. La colonisation des ports semble plus facile par les espèces cosmopolites que par les espèces locales. Des différences faunistiques importantes peuvent être observées d'un port à l'autre.

La faune ascidiologique des ports est caractérisée par une grande homogénéité dans une même grande région maritime, l'Europe par exemple. Elle est constituée d'espèces tolérantes de l'activité humaine, voire favorisées par elle. La navigation est l'un des facteurs principaux du transport des espèces d'un bassin à l'autre et de l'implantation des ascidies à travers le monde (Monniot et Monniot, 1983). Les espèces fixées sous les coques de chaque embarcation sont moins nombreuses que celles du port d'escale, mais apportent des produits génitaux ou des larves qui contribuent au brassage génétique dans les populations et en assurent la robustesse et la permanence.

Parmi les espèces colonisatrices importées nous trouvons Styela clava, espèce pédonculée, à tunique dure, d'une dizaine de centimètres, importée d'Extrême-Orient et signalée pour la première fois en France par C. Monniot (1970). Cette espèce très localisée à son arrivée s'étend maintenant à l'ensemble de la Manche et de l'Atlantique et jusqu'au bassin d'Arcachon. Microcosmus exasperatus est une espèce pan-tropicale qui a envahi la Méditerranée (Monniot C., 1981). Perophora japonica forme des colonies de petits individus jaunes, en forme de perles, réunis par des stolons, vraisemblablement importées avec l'algue envahissante Sargassum muticum et le naissain d'huîtres japonaises (Monniot et Monniot, 1985). Cette espèce se développe maintenant tous les étés sur de grandes surfaces de toutes les côtes de la Manche, y compris les ports. A Saint-Raphaël se multiplie une Polyclinidae coloniale, formant des coussinets de quelques centimètres, et une espèce de Sidnyum dont l'origine n'a pu encore être précisée. D'autres espèces ont une répartition très vaste, souvent planétaire. Leur implantation en Europe, ou leur exportation vers d'autres régions du monde, si elles sont d'origine locale, ont dû s'effectuer avant le début des recherches zoologiques. Citons : Diplosoma listerianum, Trididemnum cereum, Ciona intestinalis, Ascidiella aspersa, Botryllus schlosseri, Styela partita, Styela plicata.

II. CHOIX DES ESPÈCES INDICATRICES DE POLLUTION

Malgré l'abondance et la permanence tout au long de l'année des populations d'ascidies, celles-ci n'ont jamais été utilisées de façon systématique comme indicateurs biologiques. Papadopoulos et Kanias (1977) avaient pourtant signalé les avantages d'une telle utilisation.

Nous avons choisi des espèces de grande taille, faciles à identifier et à manipuler, qui en outre possèdent une extension géographique considérable, souvent planétaire, ce qui pourrait faciliter les comparaisons à très grande échelle. Trois espèces ont été retenues :

- Ciona intestinalis: Toujours adulte à partir de 3 cm, les animaux peuvent atteindre 15 à 18 cm en Méditerranée, 10 cm dans la Manche et dans l'Atlantique. La tunique est molle, jaune citron, plus ou moins transparente. Les animaux sont allongés, cylindriques et se rétractent énormément dès qu'on les touche. Absente des zones tropicales, l'espèce vit dans tout l'hémisphère Nord et est en train d'envahir les mers antiboréales. Elle est connue en Australie, en Afrique du Sud et au Chili.
- Ascidiella aspersa: C'est une espèce grise, non rétractile, à tunique transparente un peu rugueuse au toucher. Les individus sont rarement isolés et forment des bouquets. A partir de 3 cm ils sont toujours adultes; leur taille moyenne dans la Manche et la Méditerranée est de 6 cm environ. Originaire d'Europe, cette espèce a gagné le Japon et la Nouvelle-Zélande.
- Styela plicata: Cette espèce méditerranéenne forme des « patates » de couleur beige, à surface mammelonnée ayant la consistance du cuir. La tunique, qui n'est pas transparente, présente intérieurement des pigments rouges. Elle se rencontre dans toute la ceinture tropicale et s'étend aux zones tempérées chaudes.

Il faut ajouter *Styela clava*, espèce d'origine japonaise, qui a maintenant envahi l'Europe, l'Amérique du Nord et l'Australie.

Les manipulations sont relativement simples : ces espèces se détachent sans dommage des supports auxquels elles sont fixées ; il est toujours facile de les séparer de leur tunique par une simple incision. Le tube digestif qui pourrait contenir de grosses particules susceptibles de fausser les analyses doit être enlevé (ceci est très difficile pour les mollusques généralement utilisés pour ce type d'études). Cette opération peut être faite sur les animaux vivants ou après congélation. Pour cela on repère les deux siphons et on coupe l'animal en deux dans le plan des siphons. Le tube digestif, toujours situé sur la paroi gauche, devient visible par transparence ; il forme un tube en S et il est facile de l'enlever. Dans le cas d'un

matériel abondant, cette dissection est inutile. Les animaux sont coupés en deux dans le plan sagittal et il suffit de ne garder que la moitié qui ne contient pas le tube digestif : toute contamination par manipulation maladroite est ainsi supprimée.

Dans le cas d'une pollution très temporaire, il peut être intéressant d'analyser les contenus digestifs qui représentent la concentration des particules en suspension dans l'eau au moment du prélèvement et pendant les quelques heures précédentes. Dans ce cas, on procède comme indiqué ci-dessus, en ouvrant l'ascidie; le tube digestif apparaît sous la branchie. On arrache la branchie à l'aide de pinces, on pratique une incision dans le tube digestif et par pression des doigts les fèces sont extraites et peuvent être récupérées. Il est nécessaire de prélever au moins le contenu de vingt tubes digestifs en une même station pour minimiser les différences individuelles qui peuvent être importantes.

III. LES ZONES ÉTUDIÉES ET LES ANALYSES ENTREPRISES

Nous avons voulu montrer que les ascidies pouvaient être valablement utilisées pour mettre en évidence des métaux polluants et des hydrocarbures dans les ports de plaisance et dans les zones de conchyliculture. Six stations ont été prospectées : les ports de Saint-Malo/Saint-Servan et de Lézardrieux sur la Manche, d'Arcachon sur l'Atlantique, de Saint-Raphaël et Porto-Vecchio sur la Méditerranée, ainsi que la lagune d'Urbino en Corse où la production conchylicole est importante (RIMBAULT, 1984).

LES STATIONS

A Saint-Servan, le port des Sablons est situé en eau profonde, avec un marnage considérable. Les bateaux de plaisance sont amarrés à des pontons flottants sur caissons de plastique, maintenus par des corps morts et des chaînes d'amarrage. Cette structure est en cours de transformation.

A Lézardrieux, les pontons en épis sont portés par des flotteurs en duralumin et ancrés par des chaînes. Situé dans l'estuaire du Trieux, le port est parcouru par de forts courants de marée de flux et de reflux ; l'eau est donc renouvelée en permanence.

Le port d'Arcachon est situé en pleine ville et communique avec le bassin d'Arcachon par une seule entrée; le renouvellement de l'eau est limité au volume déplacé par la marée. Un gradient de diversité spécifique décroissant et de densité des organismes fixés s'observe de l'entrée du port vers le fond. La flottabilité des pontons est assurée par des cylindres métalliques perpendiculaires à l'axe des pontons, l'ensemble coulisse le long de pieux en béton.

Le port de Santa-Lucia à Saint-Raphaël est en travaux. Les deux bassins actuels sont réunis par un chenal où arrive un ruisseau : la Réborie. Deux émissaires d'eaux pluviales débouchent dans chacun des bassins. Des piliers en béton supportent les pontons mais le bassin Nord possède de plus quelques pontons sur flotteurs de matière plastique. C'est ce bassin qui a servi à notre étude.

Porto-Vecchio est situé au fond d'un golfe. Le port est fermé par des jetées ne laissant entre elles qu'un étroit passage. Au fond du port débouche l'émissaire de la ville. Une station d'épuration est en cours d'installation. Le renouvellement de l'eau dans le port est extrêmement faible. Les pontons sont fixes, sur des piliers en béton.

L'étang d'Urbino est une lagune isolée de la mer par un cordon littoral, mais une ouverture est entretenue en permanence pour assurer les échanges d'eau. Très peu d'eau douce arrive dans la lagune puisque aucun cours d'eau ne s'y jette. La salinité s'élève fortement en été. Il n'y a ni habitations, ni industries proches, la navigation est limitée à l'exploitation des mollusques en culture.

Une faible surface de l'étang est exploitée en fonction de la topographie du fond (Longère et al., 1972). Les huîtres et les moules sont cultivées en suspension, soit sur des filins, soit dans des paniers suspendus selon la saison. Les « radeaux » sont constitués de flotteurs cylindriques en fibre de verre qui supportent des madriers entrecroisés. On compte soixante radeaux en exploitation actuellement. Chaque radeau supporte treize rangées de quinze cordes.

Les ascidies sont fixées sur toutes les surfaces immergées : coquillages, radeaux, cordes d'amarrage, bouées, etc. De nombreux animaux vivent sur le fond où il a une accumulation de coquilles mortes et vivantes.

RÉPARTITION DES ESPÈCES (Tabl. I)

Toutes les stations étudiées (sauf Porto-Vecchio) montrent une diversité spécifique assez grande par rapport au littoral rocheux proche. Cette diversité est due à la fois à la résistance particulière des ascidies aux diverses pollutions (chimiques, bactériologiques) et à la richesse en matière organique des milieux étudiés. L'abondance des populations est en outre plus de cent fois supérieure à celle des zones non aménagées.

Caractéristiques des différentes régions :

Saint-Servan et Lézardrieux

Il existe un vaste environnement rocheux à proximité immédiate des ports. Le marnage important entraîne la formation de forts courants régulièrement alternés et un brassage de l'eau qui assure une bonne oxygénation et le transport des larves nageuses ou des gamètes. Il est donc normal de retrouver sur un substrat dur artificiel un grand nombre d'espèces du littoral rocheux proche (23 espèces à Saint-Servan et 19 espèces à Lézardrieux).

Parmi les espèces qui ne sont pas représentées dans le port, on compte surtout des formes coloniales incubatrices dont les larves ont une vie courte et exigent des conditions écologiques bien précises. Ce sont surtout des Didemnidae, des Polyclinidae. Par contre, certaines espèces particulièrement tolérantes, bien que d'aspect fragile, se développent de façon exubérante. Ce sont souvent des espèces ayant aussi une très large répartition géographique. Citons Diplosoma listerianum, Ciona intestinalis, Styela clava, qui ont une répartition mondiale, et Trididemnum cereum, Ascidiella aspersa, Botryllus schlosseri que l'on trouve dans tout l'Atlantique nord-est. Ces espèces tolèrent des eaux relativement froides et ont une période de reproduction étalée sur toute l'année.

Tableau 1. — Répartition des espèces.

	Saint-Serva: (Bas Sablons	LÉZARDRIEU	X ARCACHON	Saint-Raphaël (Santa-Lucia)	Porto- Vecchio	Urbino
Diplosoma listerianum (Milne-Edwards,						
1841)	***	**	*	*		**
Lissoclinum perforatum (Giard, 1872) Didemnum maculosum (Milne-Edwards,	*	*				**
1841)	*	*	*			
Didemnum lahillei Hartmeyer, 1909	***	**	*	ab.		
Trididemnum cereum (Giard, 1872)	*		als als als	*		**
Aplidium densum (Giard, 1872)		***	***	*		*
Aplidium nordmani (Milne-Edwards, 1841)						
Sidnyum elegans (Giard, 1872)	*					
Sidnyum turbinatum Savigny, 1816	*					*
Sidnyum sp.				*		
Polyclinum aurantium Milne-Edwards, 1841		*				
Clavelina lepadiformis (Müller, 1776)	*			*		**
Clavelina phlegraea Salfi, 1929						***
Perophora listeri Weigman, 1835	*					
Perophora japonica Oka, 1927		**				
Ciona intestinalis (Linné, 1767)	***	***	***	*	*	***
Ascidiella aspersa (Müller, 1776)	***	***	***			***
Ascidia conchylega Müller, 1776	**	*				*
Ascidia mentula Müller, 1776	**	*				*
Phallusia mammillata (Cuvier, 1815)					*	**
Botryllus schlosseri (Pallas, 1774)	***	*		*		*
Botrylloides leachi Savigny, 1816	*		**	*		***
Styela clava Herdman, 1881	**	**	***			
Styela partita (Stimpson, 1852)	*	*	Þ¢	*	*	*
Styela plicata (Lesueur, 1823)				***	*	***
Polycarpa pomaria (Savigny, 1816)		*				
Dendrodoa grossularia (Beneden, 1848)		*				
Pyura microcosmus (Savigny, 1816)	*	*				
Pyura dura Heller, 1877					**	
Microcosmus claudicans (Savigny, 1816)	*					
Microcosmus exasperatus Heller, 1878				***	*	
Microcosmus polymorphus Heller, 1877				***		
Molgula bleizi Lacaze-Duthiers, 1877	*	**				
Molgula socialis Alder, 1863	*	***	*			

^{***} espèce très abondante ; ** espèce abondante ; * espèce présente.

A Lézardrieux s'est installée la petite ascidie coloniale japonaise, *Perophora japonica*, vraisemblablement arrivée sur l'algue *Sargassum muticum* puisque l'on retrouve les deux espèces associées tout le long du littoral de la Manche.

Arcachon

L'environnement naturel est à dominance sableuse ou vaseuse. On ne retrouve donc normalement dans le port que les espèces très largement réparties citées au paragraphe précédent. Les ascidies coloniales sont rares. On rencontre par contre *Didemnum lahillei* qui est une espèce de Didemnidae pouvant former des colonies très abondantes sur les herbiers proches. La faible diversité spécifique des ascidies à Arcachon (9 espèces) est donc sans rapport avec une pollution éventuelle.

Saint-Raphaël (Santa-Lucia)

En Méditerranée, l'absence de marée et d'algues macrophytes dans la zone rocheuse oblige les ascidies généralement sciaphiles à vivre dans les milieux naturels à plus grande profondeur. La faune ascidiologique est pauvre (12 espèces). Elle est surtout constituée d'espèces cosmopolites (*Styela plicata*, *Styela partita*, *Microcosmus exasperatus*, etc.).

A Saint-Raphaël apparaît une espèce relativement abondante, *Sidnyum* sp., qui est une importation récente. Cette espèce coloniale semble se développer rapidement dans le port. Elle n'est pas connue de la faune française. Il est vraisemblable qu'elle ait été apportée sous la coque des bateaux. Son étude est en cours. L'espèce n'a jamais été décrite.

La faible diversité spécifique du port de Santa-Lucia peut être également due au faible brassage des eaux du port en l'absence de marées de grande amplitude et aux travaux effectués dans le port depuis quelques années.

Porto-Vecchio

Les conditions écologiques dans ce port sont actuellement défavorables au développement des ascidies. Les populations qui s'installent sont fragiles et temporaires. En 1983 et début 1984, une petite population de *Styela plicata* vivait sur les parois verticales des quais, et les cordes d'amarrage des bateaux, dans la partie du port située près de l'ouverture sur le large. Cette population a brusquement disparu, les animaux ayant pourri sur place. Il n'y a ni *Ciona*, ni *Ascidiella*, qui sont pourtant des espèces bien représentées dans le golfe de Porto-Vecchio, à l'extérieur du port. La seule espèce trouvée en 1985, quelques individus seulement, était *Pyura dura*, uniquement près de la sortie du port et à proximité du fond. Les animaux avaient une taille très réduite bien qu'adultes et beaucoup étaient morts.

Le port de Porto-Vecchio contient une quantité impressionnante de matières fécales, directement visibles en surface parmi des détritus de toutes sortes. De grands voiles bactériens se développent en surface de l'eau et sur le fond du bassin. Une importante quantité de dépôts ferrugineux couvre tous les substrats. Dans ces conditions il est normal que le port soit devenu presque totalement azoïque. Aucun autre groupe animal ne se développe mieux. On ne trouve aucun invertébré, sauf quelques Amphipodes, aucune algue. Seuls les mulets pénètrent dans le port où ils sont d'ailleurs pêchés!

Étang d'Urbino

Il constitue un milieu particulier pour la Méditerranée. On ne peut le comparer qu'à des lagunes de même type : étang de Thau en France, ou lagunes d'Afrique du Nord. Des installations conchylicoles ont été implantées là où existaient des bancs d'huîtres naturels. Les coquilles peuvent dans une certaine mesure être considérées comme des substrats durs pour les ascidies. Il n'y a cependant aucun rapport avec la faune d'un substrat rocheux tel qu'on pourrait le trouver sur la côte corse plus au sud.

Nous avons retrouvé à Urbino une espèce décrite autrefois en Italie et dont l'existence était douteuse : *Clavelina phlegraea*. Elle forme des colonies en boules d'aspect cristallin, dures, de la taille d'un ballon. La faune d'Urbino est caractérisée par sa pauvreté en Didemnidae et Polyclinidae et l'absence totale de Pyuridae et Molgulidae.

IV. LES MÉTAUX

En étudiant le sang des ascidies, Henze, en 1911, découvre le premier la présence et l'abondance du vanadium qui ne figure qu'à l'état de traces dans le reste du règne animal. Cette découverte a amené les chimistes à rechercher les ions métalliques dans ce groupe. Très vite on a remarqué que les ascidies avaient une aptitude toute particulière à extraire et concentrer les métaux. Une étude bibliographique complète (Monniot F., 1979a) fait le point sur les connaissances concernant les métaux chez les ascidies.

La capacité de concentrer et d'accumuler les métaux, ajoutée à un régime filtreur, donne aux ascidies un intérêt tout particulier comme indicateurs de pollutions métalliques (Monniot F., 1984) qui est confirmé par les résultats qui suivent.

Pour comprendre la signification du taux d'un métal dans une ascidie, il est nécessaire de faire simultanément une analyse :

- 1) de l'eau filtrée par les animaux (qui contient des éléments en solution) ;
- 2) du contenu du tube digestif, qui représente les éléments particulaires en suspension dans l'eau sous forme concentrée puisqu'il s'agit d'animaux filtreurs;
- 3) des sédiments sous-jacents, qui sont constitués essentiellement de minéraux (remis en suspension par agitation de l'eau, qu'elle soit due à des facteurs météorologiques ou à l'action des moteurs de bateaux dans les ports).

Le contenu du tube digestif doit absolument être enlevé quand on analyse une substance dans un organisme entier pour éviter une surestimation des produits assimilés et accumulés. Cette précaution est recommandée dans tous les travaux récents (AMIARD-TRI-QUET C. et al., 1984).

MÉTHODES UTILISÉES POUR LE DOSAGE DES MÉTAUX

L'eau est prélevée dans des flacons en polyéthylène. Elle est filtrée. Une concentration a été nécessaire dans plusieurs cas pour effectuer le dosage par spectrophotométrie en absorption atomique.

Le sédiment est récolté sur deux centimètres d'épaisseur à la verticale des animaux collectés ; il est homogénéisé et un sous-échantillon est prélevé. L'attaque ménagée est faite à l'acide chlorhydrique 4 N puis à l'acide nitrique 7 N. Les dosages sont effectués par spectrophotométrie d'absorption atomique également.

Les animaux sont choisis dans la plus grande classe de taille présente de l'espèce. Ils sont lavés sur place pour éliminer les dépôts et les épibiotes éventuels sur la tunique. Les animaux sont disséqués hors de l'eau pour isoler la tunique et les tissus d'une part et d'autre part le contenu du tube digestif. Chaque partie est congelée pour le transport au laboratoire. Les échantillons sont séchés à 100° C pendant 24 heures. Un gramme d'échantillon broyé subit une attaque à l'acide nitrique et à l'acide fluorhydrique pour le fer, manganèse, cuivre, zinc, strontium; 0,5 gramme d'échantillon est broyé et attaqué à l'acide nitrique pour le cadmium et le plomb. Les dosages sont ensuite effectués comme précédemment.

LES MÉTAUX ÉTUDIÉS

Le fer est un élément polluant mais il entre dans la composition du sang des ascidies où il joue un rôle dans la respiration.

Le manganèse a été dosé parce qu'il a une importance biologique certaine au niveau des réactions enzymatiques. D'autre part, les variations de ce métal sont importantes d'une station à l'autre aussi bien dans l'eau que dans les sédiments. La comparaison avec d'autres études est difficile car ce métal est rarement recherché bien que son dosage ne présente pas de difficultés particulières.

Le cuivre est un polluant majeur. Il n'entre pas dans les éléments servant à la respiration des ascidies (contrairement aux mollusques gastéropodes).

Le zinc a une importance particulière dans les ports de plaisance. Des éléments de ce métal sont immergés par les navigateurs pour éviter la corrosion des hélices. Le zinc est très rapidement attaqué par l'eau de mer. Donc à une pollution banale s'ajoute une pollution spécifique aux ports.

Le **plomb** est très toxique. Il provient des émissaires urbains, des industries, des carburants, etc.

Le cadmium, métal très toxique, n'a pas atteint de valeur alarmante dans les stations étudiées.

Le **strontium**, d'après les résultats d'une première série d'analyses, ne présente pas de variations significatives dans les tissus animaux ; il est lié beaucoup plus à la salinité de l'eau ou à des variations temporaires du plancton, qu'à une pollution éventuelle. Sa recherche a donc été abandonnée et les résultats ne figurent pas sur les tableaux.

L'étain n'a pas donné de résultats exploitables. Les méthodes actuelles de dosage de ce métal ne sont pas fiables pour de faibles quantités. Des essais ont été entrepris à l'université de Pau ; certaines difficultés sont dues aux moyens de minéralisation de ce métal. Les résultats n'étant pas reproductibles, les dosages ont été abandonnés au cours de ce travail.

TENEURS DANS L'EAU (Tabl. IV et V)

Les teneurs en fer dans l'eau ne sont pas très fortes dans les stations de Méditerranée ou de la Manche puisqu'elles ne dépassent pas $0.5 \,\mu\,\text{g/ml}$. Cependant, il faut signaler une teneur de $150 \,\mu\,\text{g/ml}$ à la sortie de l'émissaire de Porto-Vecchio.

Le manganèse a une teneur toujours très faible, de l'ordre de $0.001 \,\mu\,\text{g/ml}$, sauf à la sortie de l'émissaire de Porto-Vecchio avec $0.092 \,\mu\,\text{g/ml}$.

Le **cuivre** n'est que peu abondant à Saint-Servan et Lézardrieux avec 0,007 et $0,008 \,\mu$ g/ml. Il atteint des valeurs nettement supérieures en Méditerranée avec $0,016 \,\mu$ g/ml à Urbino et au large, et de 0,011 à 0,021 à Porto-Vecchio $(0,110 \,\mu$ g/ml à la sortie de l'émissaire de Porto-Vecchio).

Le **zinc** dissous n'est que peu important $(0.04 \text{ à } 0.06 \,\mu\,\text{g/ml})$; par contre, pour l'émissaire de Porto-Vecchio on a dosé $0.11 \,\mu\,\text{g/ml}$.

Le **strontium** a des valeurs situées entre 7,5 et $10 \,\mu\,\text{g/ml}$. Il est surtout lié à la salinité de l'eau.

Le **plomb** n'a été trouvé qu'en quantités très faibles dans l'eau à Urbino avec $0,003 \,\mu \,\text{g/ml}$, ou à Porto-Vecchio et Lézardrieux 0,001 et $0,0008 \,\mu \,\text{g/ml}$. Il faut noter une valeur dix fois plus grande au niveau de l'émissaire de Porto-Vecchio mais aussi dans le port de Saint-Servan.

TENEURS DANS LE SÉDIMENT

L'objectif de l'étude sédimentaire est double : d'une part, détecter les indices d'une éventuelle pollution dans les zones situées sous ou à proximité des points de fixation des ascidies ; d'autre part, déterminer l'influence de cet environnement sédimentaire sur les teneurs en métaux trouvées dans les corps et les tubes digestifs des ascidies.

Après séchage à 110° C, l'échantillon sédimentaire a subi une série de broyages destinée à homogénéiser l'échantillon et à obtenir une finesse de grain de l'ordre de $20-50 \,\mu\text{m}$. L'examen minéralogique a été effectué d'une part en observation au microscope polarisant, sur frottis à partir du matériel initial non broyé, d'autre part par diffractométrie X sur l'échantillon broyé. Des carbonatométries ont été effectuées afin de connaître les teneurs en CaCO3 liées aux test calciques et aragonitiques des organismes (nano- et microfossiles).

L'identification des cortèges minéralogiques (tabl. II), les proportions relatives de minéraux entre eux, ainsi que l'estimation de leur taille ont permis de déterminer le faciès de ces dépôts, du moins en ce qui concerne les phases bien cristallisées :

TABLEAU II. — Composition minéralogique des sédiments.

Stations	Stations Minéraux Moyennement abondants abondants		Présence en traces	% CaCO3	
Saint-Servan	Quartz Calcite et Calcite magné- sienne	Micas Argiles	Plagioclases Amphiboles Feldspaths Aragonite Diatomées, spicules d'éponges	31,87	
Lézardrieux	Quartz Feldspaths	Microcline Calcite Minéraux opaques Argiles	Micas Aragonite Glauconie	12,06	
Arcachon	Quartz	Argiles Feldspaths Plagioclases	Pyrite	5,09	
Porto-Vecchio	Quartz Feldspaths (albite ou oli- goclase)	Minéraux opaques Plagioclases (type mi- crocline) Micas	Amphiboles Pyrite Glauconie? Diatomées et spicules d'éponges	0	
Urbino	Quartz	Minéraux opaques Argiles brunes et vertes	Pyrite, Feldspaths Plagioclase (microcline) Micas Glauconie Diatomées et spicules d'éponges	0	

- Saint-Servan : vase sablo-argileuse à quartz et carbonates ;
- Lézardrieux : vase sablo-argileuse à quartz et carbonates ;
- Arcachon : vase sablo-argileuse à quartz ;
- Porto-Vecchio : sable détritique grossier à quartz et feldspaths ;
- Urbino : vase sablo-argileuse à quartz.

Aucun minéral ne peut être considéré comme le témoin d'une éventuelle pollution. Ils appartiennent, de par leur forte proportion, à la fraction héritée de la géologie locale. Tout au plus, la pyrite et la glauconie (la présence de cette dernière est à confirmer par des analyses plus pointues) indiquent des milieux réducteurs à fort apport de matière organique. Mais ce phénomène peut être indépendant de celui de la pollution. C'est le cas de l'étang d'Urbino où ces niveaux ont été décelés. Cet étang est un bon exemple géologique de milieu confiné.

Les éléments métalliques majeurs (Ni, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn) ont été dosés par voie chimique, suivant la méthode utilisée pour les boues minéralisées qui montrent la coexistence d'une phase oxydée et d'une phase réduite. Cette méthode a pour but de ménager essentiellement la phase silicatée cristallisée (exception faite pour les argiles mal cristallisées), représentative généralement de la fraction dite « détritique » (quartz, feldspaths, amphiboles, micas...), tout en prenant en compte les métaux liés aux phases oxydées et réduites, cristallisées ou amorphes.

Ainsi, dans l'hypothèse où la pollution des sédiments se traduit soit par un apport direct de particules métalliques ou organo-métalliques, soit par une néoformation de minéraux de type oxy-hydroxydes ou sulfures (dépendant des teneurs en métaux et oxygène dissous dans l'eau de mer), la fraction héritée du contexte géologique local se trouve éliminée.

Les teneurs en métaux liées à la phase soluble à HCl à chaud (oxy-hydroxydes, débris métalliques et organo-métalliques, certains sulfures...) ont été séparées de celles liées à la phase insoluble à HCl, mais solubles à HNO3 à chaud (sulfures de fer surtout). Seules les valeurs totales figurent dans le tableau III. Pour les sédiments carbonatés (Saint-Servan, Lézardrieux, Arcachon), les valeurs ont été ramenées à la fraction insoluble à HCl à froid, de manière à éliminer l'influence non polluante des éléments carbonatés (coquilles et tests).

	Fe (%)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Pb (ppm)	Ni (ppm)
Saint-Servan	2,774	225	52	115	tr	34
Lézardrieux	1,693	134	17	64	0	94
Arcachon 1	4,679	243	76	252	103	38
Arcachon 2	3,357	181	58	224	79	29
Porto-Vecchio 1	2,599	298	96	254	0	tr
Porto-Vecchio 2	2,637	260	67	201	71	39
Urbino	3,176	556	49	91	0	137

TABLEAU 111. — Teneur en métaux des sédiments.

Le fer: Les teneurs en fer total varient entre 2 et 4 %, valeurs relativement faibles éliminant l'hypothèse d'un apport important de particules fines métalliques. D'autre part, aucune relation n'apparaît entre ces teneurs et celles mesurées dans l'eau de mer (ceci est particulièrement net pour l'eau à la sortie de l'émissaire de Porto-Vecchio). L'examen du rapport fer lié aux oxy-hydroxydes / fer lié au soufre indique des valeurs supérieures à 10 pour Lézardrieux, et comprises entre 3 et 5 pour les autres stations. Ces différences sont à lier probablement à des conditions différentes d'oxygénation du milieu quel que soit le degré de pollution. En effet, à Urbino, ce rapport reste faible, ce qui est à mettre en relation avec le milieu confiné que représente cet étang.

Le manganèse : Les teneurs les plus élevées ont été observées à Urbino (550 ppm), tandis qu'ailleurs elles sont environ deux fois plus faibles. Cet élément doit être significatif de l'environnement géologique qu'il pourrait éventuellement caractériser. Le **zinc**: Les teneurs sont plus élevées à Porto-Vecchio que partout ailleurs (2 fois plus qu'à Urbino), ce qui atteste d'une pollution à mettre en relation avec les valeurs élevées trouvées dans les eaux à la sortie de l'égout.

Le **cuivre** : Son comportement est identique à celui du zinc et cet élément pourrait donc être aussi un bon indicateur de pollution.

Les autres métaux analysés (plomb, nickel) dans les sédiments ne paraissent pas avoir un comportement significatif.

A l'exception du fer que l'on pourrait associer à la présence de pyrite (Porto-Vecchio, Urbino, Arcachon), aucun de ces métaux n'atteint des teneurs suffisantes pour que l'on puisse leur attribuer un support minéralogique.

Comparaison avec des valeurs observées dans les sédiments et dans les contenus digestifs des ascidies (Tabl. IV)

On tient compte ici des teneurs en métaux des tubes digestifs (moyenne sur l'ensemble des ascidies de la station). En valeurs absolues, le cuivre, dans tous les cas, est plus abondant dans les ascidies de même que le fer (excepté à Lézardrieux); à l'inverse du zinc et du manganèse dont les teneurs pour ce dernier, à Urbino, sont neuf fois supérieures à celles trouvées dans les tubes digestifs.

Si l'on considère les rapports de certains métaux entre eux, en particulier Fe/Mn et Mn/Zn (tabl. IV), plusieurs faits sont à noter.

Tableau IV. — Valeurs comparées des teneurs en métaux — des tubes digestifs d'ascidies (moyenne des espèces), des sédiments (échantillon total), des eaux.

		Fe %	Mn ppm	Cu ppm	Zn ppm	Fe/Mn	Mn/Zr
Saint-Servan	T.d. ascidies	1,450	175	33	119	83	1,5
	Sédiments	1,890	153	35	79	124	1,9
	Eau	0,000018	0,001	0,008	0,04	180	0
Lézardrieux	T.d. ascidies	1,785	238	19	116	75	2,1
	Sédiments	1,489	118	98	57	126	2,1
	Eau	0,00005	0,0013	0,016	0,04	385	0
Arcachon	T.d. ascidies	1,348	197	24	212	68	0,9
	Sédiments	4,117	212	79	228	194	0,9
Porto-Vecchio	T.d. ascidies	1,567	345	48	261	45	1,3
	Sédiments	2,599	298	95	254	87	3,4
	Eau sortie égout	0,0015	0,092	0,11	0,11	16	0,8
Urbino	T.d. ascidies	0,733	5100	13	54	1,4	94
	Sédiments	3,176	558	49	92	57	6
	Eau	0,00005	0,0013	0,016	0,04	385	0

Le rapport Fe/Mn est important dans l'eau de mer (excepté pour l'émissaire de Porto-Vecchio). Il devient de deux à cinq fois plus faible dans les sédiments, où il est deux fois plus important que dans les tubes digestifs (40 fois plus pour Urbino). Il y a donc une plus grande accumulation de manganèse que de fer dans les ascidies, en comparaison avec ce que l'on observe dans les sédiments et dans l'eau de mer. Ce rapport apparaît comme plus faible dans les eaux polluées (Porto-Vecchio), ce qui indique un apport de fer dissous plus important par rapport à celui de manganèse. Ce rapport pourrait être un indicateur de pollution, dans la mesure où l'on dispose de points de référence de non-pollution. A Urbino, ce rapport très faible (1,4) est à l'évidence à mettre en relation avec les teneurs élevées en manganèse des sédiments (550 ppm), alors que les eaux de cet étang ne montrent pas d'anomalies positives pour cet élément.

Le rapport Mn/Zn est quasi identique pour les sédiments et les tubes digestifs, ce qui pourrait laisser penser à une absorption particulaire des vases (suspensions). A cet égard, une étude sur l'agitation des eaux portuaires pourrait apporter des informations supplémentaires sur la mise en suspension des sédiments.

L'étude minéralogique montre que c'est le contexte géologique local qui est le facteur prépondérant (même dans les ports) de la composition des vases récoltées.

Les indices de pollution sont à rechercher plutôt dans les teneurs en éléments métalliques de ces vases. Le zinc et le cuivre semblent de bons indicateurs ; de même, le rapport fer lié aux oxy-hydroxydes / fer lié au soufre est significatif du degré d'oxygénation des eaux et des apports en matières organiques.

Les teneurs en métaux observées dans les tubes digestifs d'ascidies semblent plus refléter le chimisme des vases sous-jacentes que celui des eaux environnantes. Ceci indique une absorption par les ascidies des particules en suspension d'où pourrait être extraite une partie du manganèse qu'elles accumulent. Cet élément, moins lié que le fer ou le zinc au phénomène de pollution, apparaît avoir un comportement particulier. En effet, son absorption par le biais des vases semble être freiné en milieu pollué. Ceci est net à Urbino (zone non polluée), où l'on peut observer dix fois plus de manganèse dans les tubes digestifs que dans les sédiments.

Le rapport Fe/Mn, par ses faibles valeurs, pourrait donc indiquer une absence de pollution. D'autres études pourraient confirmer ce fait.

TENEURS DANS LES ANIMAUX (Tabl. V)

Le fer

Les teneurs relevées dans les contenus digestifs des différentes espèces sont très variables d'un échantillon à l'autre, sans que l'on puisse vraiment trouver une différence significative entre les ports de la Manche, de l'Atlantique ou de la Méditerranée (voir tabl. V). Des particules métalliques sont souvent directement visibles dans les fèces des animaux et modifient donc sensiblement les teneurs, même quand les résultats portent sur la moyenne d'un nombre élevé d'animaux. Les teneurs dans les tissus correspondent au contraire à une assimilation et à un stockage par les animaux. Pour le fer, *Styela* et *Ciona* con-

centrent le métal de façon à peu près équivalente en Méditerranée; par contre, lorsqu'on compare dans une même station atlantique *Ciona* et *Ascidiella*, on remarque que *Ascidiella* contient toujours au moins deux fois plus de fer que *Ciona*. Les deux ascidies forment des populations entremêlées.

Les valeurs plus faibles observées à Urbino dans les tissus et le contenu digestif, malgré la richesse des sédiments très supérieure de cette station, montrent bien que l'accumulation réalisée par les animaux ne dépend pas que des particules sédimentaires remises en suspension. Il y a bien dans les ports une pollution par le fer. Des conclusions inverses seront avancées pour le manganèse (voir ce chapitre).

Les concentrations en fer dans les ascidies pour les ports sont nettement supérieures aux résultats publiés par le RNO pour les moules. C'est pourquoi nous avons voulu comparer ascidies et mollusques en un même point. Les mollusques ont été débarrassés de leur coquille mais pas de leur tube digestif, ce qui devrait normalement donner une valeur trop élevée. A Urbino, les tissus de *Ciona* contiennent 1 400 ppm de fer, les moules sur lesquelles elles sont fixées 50 ppm seulement. A Arcachon, pour 4 200 ppm de fer chez *Ciona* on mesure 700 ppm dans les moules. Enfin à Porto-Vecchio, sur la bouée placée à l'entrée du port, en juillet 1985, on a mesuré pour une *Ciona* entière 7 200 ppm de fer et seulement 240 ppm pour les moules et 140 ppm pour les huîtres.

On peut donc conclure que, en ce qui concerne le fer, les ascidies constituent un meilleur indicateur biologique que les mollusques. On peut ajouter que Ascidiella aspersa (espèce présente sur toutes les côtes françaises, voir liste faunistique) est la meilleure espèce à utiliser pour le fer. Il faut cependant garder en mémoire le mode de filtration différent des deux types d'animaux, les ascidies retenant certainement plus de particules sédimentaires en suspension que les mollusques.

Le manganèse

Dans la Manche, les teneurs sont faibles par rapport à la Méditerranée à la fois pour le contenu digestif et les tissus; ces valeurs semblent liées à celles du sédiment. Le stockage important dans les tissus en Méditerranée montre que les ascidies constituent un bon indicateur biologique pour ce métal. Les différentes espèces sont équivalentes en ce qui concerne la concentration du métal. On remarque une teneur plus forte en manganèse dans *Pyura dura* à Porto-Vecchio, dans le tube digestif et dans les tissus. Ces valeurs élevées sont normales, les animaux ayant été prélevés à la base des piliers des pontons, au contact immédiat du sédiment.

La teneur des huîtres et des moules en manganèse est quarante fois moindre que celle de *Ciona* à Porto-Vecchio. On retrouve des résultats de même ordre à Urbino où il y a trente fois plus de manganèse dans *Ciona* que dans les moules et à Arcachon dix fois plus.

Les ascidies sont un très bon indicateur biologique pour le manganèse, bien supérieur aux mollusques. Le manganèse n'est pas considéré comme un métal polluant, mais l'effet de teneurs élevées dans les organismes reste inconnu. Comme pour le fer, il s'agit essentiellement d'une origine sédimentaire donc d'une différence entre la filtration par les mollusques et par les ascidies.

Le cuivre

Les teneurs des contenus digestifs sont très variables et ceci correspond à des variations temporaires du milieu, comme pour le fer. Il y a une bonne accumulation de cuivre dans les tissus et l'on constate parfois une plus grande quantité de métal dans les tissus que dans le contenu digestif. Le cuivre accumulé doit provenir moins de particules ingérées que de composés dissous. Il n'y a pas de lien avec la teneur en cuivre du sédiment.

Ciona et Ascidiella semblent constituer de meilleurs indicateurs que Styela pour le cuivre. La comparaison de Ciona avec les mollusques (huîtres et moules) donne un résultat équivalent en milieu pollué à Porto-Vecchio, tandis qu'en milieux moins riches en cuivre à Urbino et Arcachon les tissus de Ciona contiennent trois fois plus de cuivre que les moules (18 et 6 ppm). Ciona et Ascidiella constituent de bons indicateurs biologiques. Les teneurs en cuivre dans les stations étudiées n'ont aucun caractère alarmant.

Il faut signaler la pollution très importante du port de Porto-Vecchio pour le cuivre si on la compare aux mesures effectuées sur le littoral méditerranéen (moules) (HAX-NIENCHESKI, 1982; GENDRON et al, 1984).

Le zinc

Les teneurs en zinc sont très constantes pour une même station, d'un prélèvement à l'autre.

La teneur en zinc des tissus est directement liée à celle des tubes digestifs, mais moins à celle des sédiments : Ciona contient moins de zinc dans son tube digestif et ses tissus à Urbino que dans la Manche, les sédiments étant pourtant plus riches. La pollution par le zinc est nette dans tous les ports par rapport à Urbino. Les valeurs dans les tissus d'ascidies oscillent entre 50 et 140 ppm dans les ports, elles ne dépassent jamais 50 ppm à Urbino.

Les trois ascidies, Ciona, Ascidiella, Styela, concentrent le zinc de façon équivalente et les teneurs sont tout à fait comparables à celles de moules aussi bien à Urbino qu'à Porto-Vecchio ou Arcachon. Les données du RNO (1984) confirment ce résultat. Par contre, les huîtres montrent des résultats surprenants. A la sortie du port de Porto-Vecchio, Ciona contient 148 ppm de zinc (ce qui représente une valeur moyenne pour les ascidies à cette station), mais les huîtres au même point (Ostrea edulis) en contiennent 1 900 ppm et à l'intérieur du port 2 270 ppm!

Les résultats doivent encore être confirmés par d'autres prélèvements mais ils montrent déjà que, pour le zinc, moules et ascidies sont équivalentes, mais les huîtres sont un bien meilleur indicateur biologique.

Les teneurs en zinc dans les animaux des ports ne sont pas très élevées par rapport aux mesures signalées dans la Manche et en Méditerranée.

Le strontium

Les teneurs sont très variables dans une même station selon les dates de prélèvement. Elles sont très liées à celles du calcium et dépendent beaucoup des organites planctoniques ingérés. Aucune conclusion ne peut en être tirée (tube digestif de 200 à 1 150 ppm, corps de

200 à 900 ppm). Nous n'avons pas inclus les valeurs obtenues dans nos tableaux puisqu'elles ne conduisaient à aucune interprétation et qu'il ne s'agit pas d'un élément de pollution.

Le plomb

Dans les tubes digestifs, on trouve en Méditerranée cinq fois plus de plomb à Porto-Vecchio ou Saint-Raphaël qu'à Urbino. C'est à Saint-Raphaël que l'on trouve le plus de plomb dans les tissus de *Styela*, avec 7,5 ppm. Dans la Manche, les teneurs des contenus digestifs sont un peu moindres mais la pollution existe puisqu'à Lézardrieux on a dosé de 7,5 à 12 ppm de plomb dans les tissus de *Ciona* et *Ascidiella* et de 4,6 à 8,6 ppm à Saint-Servan. A Arcachon, les teneurs sont de même ordre (8,7 et 13 ppm). La différence avec Urbino est importante, les valeurs allant de 1 à 1,8 ppm seulement dans les tissus à cette station.

Il y a donc dans les ports de plaisance une pollution nette par le plomb.

Les différences de concentration entre les diverses espèces d'ascidies sont négligeables. Les différences observées par rapport aux mollusques sont particulièrement intéressantes. A Urbino où il y a peu de plomb, les moules concentrent ce métal cinq fois moins que les ascidies. A Arcachon, les moules avec leur contenu digestif contenaient, en 1985, deux fois moins de plomb que les ascidies. A Porto-Vecchio, *Ciona* contenait sept fois plus de plomb que les moules et soixante-dix fois plus que les huîtres!

Pour le plomb, les ascidies sont les meilleurs indicateurs biologiques ; il faut certainement se réjouir de la plus faible accumulation de ce métal par les mollusques comestibles.

Le cadmium

Les teneurs sont toujours faibles dans le tube digestif et dans les tissus. Les teneurs dans le tube digestif sont plus importantes en Méditerranée mais variables selon la saison; elles n'atteignent jamais 1 ppm. Le cadmium présent aussi à Urbino, station sans apport industriel, peut être dû à des impuretés des engrais phosphatés employés pour les agrumes (communication orale des agriculteurs qui disent avoir abandonné les engrais incriminés).

Toutes les ascidies testées accumulaient le cadmium.

Les moules et les huîtres accumulent le cadmium de façon équivalente et un peu supérieure aux ascidies.

On ne peut parler de pollution par le cadmium dans les stations étudiées.

Tableau V. — Teneurs en métaux dans les ascidies et l'eau dans les diverses stations. (Teneurs exprimées en ppm et mg/l.)

	Saint-Ser	van				
	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd
Ciona intestinalis (10-84)					-	
Corps Tube digestif	2240 20000	80 215	18,8 26,4	70 108	4,6 24	0,15 0,27
Ascidiella aspersa (10-84)						
Corps Tube digestif	4000 11000	110 135	20 18	76 74	8,6 15	0,25 0,20
Ciona (6-85)						
Corps Tube digestif	2800 14000	85 175	19 51	96 160	6,5 28	0,06 0,85
Ascidiella (6-85)						
Corps Tube digestif	4000 13000	100 175	14 35	120 132	6,6 20	0,17 0,81
Lissoclinum perforatum (10-84)	5100	110	16	600	10	2
Eau (10-84)	0,37	0,0011	0,1007	0,05	0,0085	_
	Lézardri	eux				
	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd
Ciona (10-84)						
Corps Tube digestif	2240 22400	150 235	19,5 15,5	100 130	12 24	$0,01 \\ 0,21$
Ascidiella (10-84)						
Corps Tube digestif	5000 10600	275 240	13 19,4	80 112	10 18	0,05 0,35
Ciona (6-85)						
Corps Tube digestif	3500 23000	350 365	15 23	100 110	7,5 21	0,08 0,17
4 14 11 46 0 11						
Ascidiella (6-85)						
Ascidiella (6-85) Corps Tube digestif	5000 15400	365 350	14,5 16,5	88 112	7,5 23	0,16 0,16

Arcachon

	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd
Ascidiella (4-85)						
Corps	11500	330	17,5	140	8,7	0,10
Tube digestif	16955	223	34	200	13,3	0,17
Ciona (4-85) Corps	4200	160	18,5	80	13	0,07
Tube digestif	10000	170	14,4	224	28,5	0,12
Moules (4-85)	700	15	6,8	52	1,75	0,56
	Saint-Rap	haël				
	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd
Styela (12-84)						
Corps	2800	185	15,2	78	6,8	0,25
Tube digestif	22000	330	75	132	38,5	0,36
Styela (8-85)	1740		1.0	40	7.5	0.20
Corps Tube digestif	1740 18000	_	18 86	40 240	7,5 22	0,30 0,30
	Porto-Vec	chio			•	
	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd
Styela plicata (7-84)						
Corps Tube digestif	2035 10800	82 220	11 57	82 240	4,5 33,5	0,14 0,36
Styela plicata (10-84)	10000	220	37	240	55,5	0,50
Corps	1800	100	9	50	5,5	0,15
Tube digestif	19400	285	42	164	33	0,9
Pyura dura (7-85)						
Tunique + viscères	4600	435	20	140	12	0,17
Tube digestif Corps	16800 100	530 10	44 7,2	380 390	36 0,2	0,18
Ciona intestinalis (7-85)	100	10	,,2	370	0,2	0,01
Entière, bouée	7200	410	46	148	14	0,1
Huître port (7-85)	140	10	115	2270	0,2	0,31
Huître bouée (7-85)	140	10	60	1900	0,2	0,52
Moule bouée (7-85)	240	10	43,5	110	2,1	0,48
Eau sortie du port (7-84) Eau sortie de l'égout (7-84)	0,42 1,50	0,0004 0,092	0,011 0,11	0,06 0,11	$0,001 \\ 0,007$	_

ж	Y	-		٠			
ı	J	rì	h	1	n	o	

	Fe	Mn	Cu	Zn	Pb	Cd
Styela (7-84)						
Corps Tube digestif	1085 10300	900 13250	9,5 19	47 76	1,8 7,5	0,43 0,80
Styela (10-84)						
Corps Tube digestif	580 10400	315 2250	3,9 11	24 56	1 6,6	0,09 0,25
Styela (7-85)						
Corps Tube digestif	1400 4560	900 5400	6,2 15,6	46 40	1 4,5	0,15 0,75
Ciona (10-84)						
Corps Tube digestif	940 9000	490 2100	13,2 10	28 56	1,8 7,2	0,05 0,15
Ciona (7-85)						
Corps Tube digestif	1400 2400	860 2500	18 10	40 40	1 1,1	0,10 0,44
Moules (7-85)	50	30	6,2	104	< 0,2	0,64
Eau (7-85)	0,5	0,0013	0,016	0,04	0,0003	_

ORGANES D'ACCUMULATION DES MÉTAUX

De très nombreux auteurs se sont intéressés autrefois aux métaux accumulés par les ascidies et aux différences entre les familles, parce qu'ils reliaient de fortes concentrations métalliques des cellules sanguines à un rôle respiratoire. Les recherches les plus modernes ne donnent plus un tel rôle aux métaux accumulés.

Les ascidies n'ayant pas d'organes excréteurs, il est intéressant, puisqu'elles concentrent les métaux toxiques pour les animaux, à des taux élevés, de savoir dans quelle partie du corps ces éléments sont accumulés. Nous avons fait cette recherche dans une zone polluée, Porto-Vecchio, chez la seule ascidie qui réussit à y survivre : *Pyura dura*. Cette espèce a normalement une durée de vie de deux à trois ans. Elle est entourée d'une tunique très dure et imperméable. Elle forme des sphères de 3 cm de diamètre environ, à l'état adulte. Le manteau est épais et très musclé. La branchie forme des plis profonds où circulent de très nombreux sinus sanguins. Les gonades hermaphrodites sont appliquées sur le manteau ; le tube digestif forme un tube en S peu inclus dans les tissus du manteau.

Pour rechercher les métaux, nous avons voulu isoler le tube digestif contenant l'ensemble des particules filtrées, les tissus internes et la tunique. Ces opérations ont été réalisées, non pas par des dissections fines sous microscope binoculaire, mais sur le terrain de façon à réaliser une manipulation reproductible à grande échelle par un non-spécialiste.

Les animaux prélevés ont été coupés en deux dans le sens de la longueur dans un plan passant par les siphons. La moitié contenant le tube digestif a été séparée en deux échantillons : l'un formé du tube digestif et de son contenu, l'autre formé du reste : tissus mous plus tunique. Le troisième échantillon correspond aux tissus mous de l'autre moitié de l'ascidie, la tunique étant éliminée. Les trois échantillons ont ensuite subi les mêmes étapes de préparation pour l'analyse des métaux.

Les résultats sont présentés dans le tableau VI.

TABLEAU VI. — Teneurs en métaux de divers éléments de Pyura dura dans le port de Porto-Vecchio.

	Fe (%)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Pb (ppm)	Cd (ppm)
Tissus + tunique	4,6	435	20	140	12	0,17
Tissus seuls	0,1	< 10	7,2	390	< 0,2	0,01
Contenu digestif	16,8	530	44	380	36	0,18

On remarque immédiatement que les teneurs en métaux du contenu digestif sont élevées, et surtout qu'il y a une différence très nette entre les tissus et la tunique. Le zinc ne se comporte pas comme les autres métaux. Pour le fer, le manganèse, le cuivre, le plomb ou le cadmium, on constate une teneur beaucoup plus élevée dans la tunique qui accumule ces métaux.

La tunique des ascidies est sécrétée par l'épithélium externe du manteau et certaines cellules libres y émigrent à travers l'épithélium palléal. La tunique est constituée de polysaccharides proches de la cellulose et quelques protéines s'y ajoutent. Quelques cellules éparses vivent dans la couche interne; les couches les plus externes sont tannées. La combinaison des métaux aux éléments de la tunique qui ne sont pas repris dans le métabolisme des ascidies explique leur absence de toxicité pour ces animaux, même à des taux assez élevés.

Si les métaux sont essentiellement accumulés dans la tunique, on peut s'interroger sur leur devenir. En effet, à la mort des ascidies, les tissus mous sont très rapidement décomposés et consommés par les invertébrés benthiques. Par contre, les tuniques tombent sur le fond où elles se dégradent lentement. Elles ne sont consommées ni par les poissons, ni par les invertébrés mais seulement attaquées par les champignons ou les bactéries. Une partie est enfouie dans les sédiments et minéralisée. Aucune étude sur cette biomasse et les éléments qu'elle contient n'a été entreprise, même dans les bassins de conchyliculture.

V. LES HYDROCARBURES

Méthodes

Les hydrocarbures présents dans les organismes étudiés ont été identifiés et dosés par chromatographie en phase gazeuse à haute résolution/ordinateur (GC²) selon les techniques publiées en détail par ailleurs (OUDOT, 1984).

Après extraction au Soxhlet (8 h) à l'aide de chloroforme, les lipides totaux sont purifiés de la majeure partie des acides gras par percolation sur une colonne de florisil après concentration du solvant. Cet éluat est ensuite séparé en fractions, saturée, aromatique et polaire, par chromatographie liquide-solide sur une colonne de silica-gel activé, par élution successive à l'aide d'hexane, de benzène et de méthanol.

L'analyse présentée porte sur la fraction saturée des hydrocarbures (alcanes).

Pour chaque échantillon, les chromatogrammes analogiques A (qualitatifs) et numériques B (quantitatifs) sont représentés. L'étalon interne (I.S.) est du n-1 eicosène, un alcène qui n'interfère pas avec les hydrocarbures pétroliers. La contamination est estimée par rapport aux pics individuels (n-alcanes) et par rapport à la somme totale des pics d'hydrocarbures saturés identifiés. La teneur en hydrocarbures « totaux » serait supérieure, car il faudrait y ajouter les hydrocarbures aromatiques ainsi que les asphaltènes et résines d'origine pétrolière. La technique employée est bien adaptée au dosage des hydrocarbures dans les tissus biologiques (Farrington et al., 1985).

RÉSULTATS

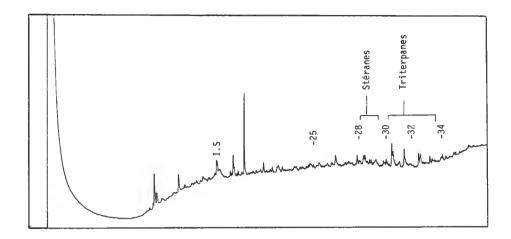
Saint-Servan

Ciona intestinalis (fig. 1) contient des hydrocarbures saturés. Le spectre chromatographique est caractéristique d'une contamination d'origine pétrolière ancienne, les n-alcanes étant plus dégradés que les iso-alcanes (rapport n/iso = 0,22). Les stéranes et les triterpanes confirment l'origine fossile des hydrocarbures. La contamination en aliphatiques résolus est de 43 ppm.

Ascidiella aspersa est également contaminée par des hydrocarbures pétroliers dégradés. Le spectre des hydrocarbures aliphatiques diffère légèrement de celui de Ciona mais confirme l'origine pétrolière des hydrocarbures contaminants. Cette espèce contient en outre des hydrocarbures biogéniques éluant entre C 31 et C 36. La contamination en alcanes pétroliers s'élève à 23 ppm.

Lézardrieux

Dans Ciona intestinalis des alcanes pétroliers dégradés de même type sont également mis en évidence. Leur teneur est moindre (10 ppm) qu'à Saint-Servan (43 ppm) et à Porto-Vecchio (85 ppm).



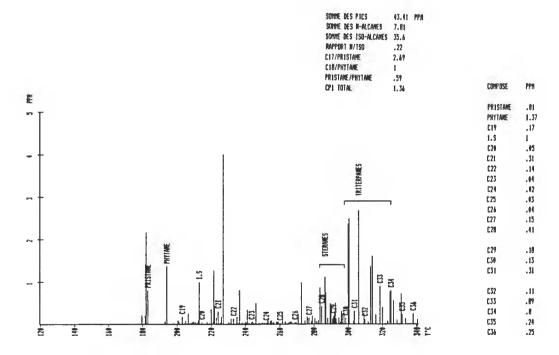
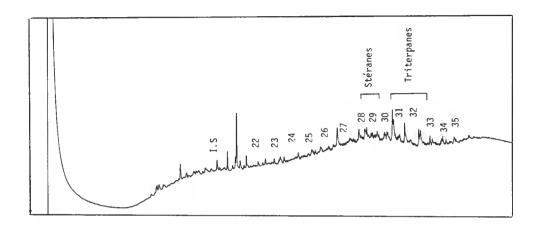


Fig. 1. - Ciona intestinalis: Saint-Servan, contamination pétrolière ancienne.



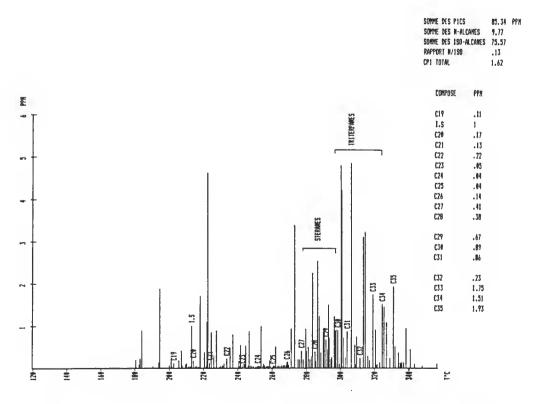


Fig. 2. — Styela plicata: Porto-Vecchio, forte contamination par des produits pétroliers dégradés.

Porto-Vecchio

Styela plicata (fig. 2) présente le spectre caractéristique d'une forte contamination par des produits pétroliers très dégradés. En effet, les alcanes ramifiés (iso-alcanes) prédominent par rapport aux n-alcanes (n/iso = 0,13) et les stéranes (alcanes tetracycliques) comme les triterpanes (alcanes pentacycliques de la série du hopane) sont prédominants. Par ailleurs, la fraction saturée résolue par GC^2 atteint 85 ppm.

Urbino

Ciona intestinalis (fig. 3) ne contient que de très faibles traces d'hydrocarbures, chaque n-alcane comptant pour moins de 0,1 ppm. La quantité totale d'hydrocarbures saturés aliphatiques est voisine de 2 ppm. L'absence de stéranes et de triterpanes comme la prédominance des n-alcanes impairs entre C 25 et C 32 indique que ces n-alcanes sont d'origine biogénique et non pétrolière. Styela plicata présente un spectre analogue d'alcanes biogéniques pour une teneur globale de 5,5 ppm.

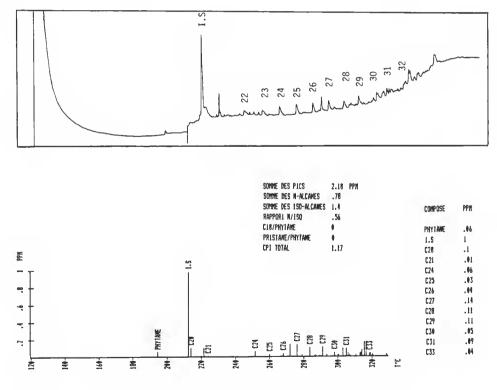


Fig. 3. — Ciona intestinalis: Urbino, site propre.

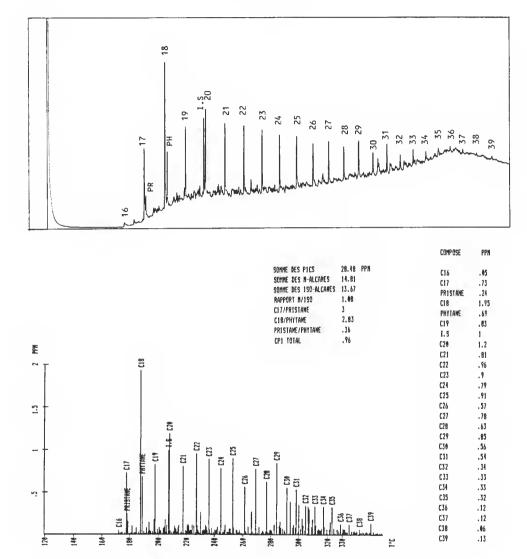


Fig. 4. — Ciona intestinalis: Arcachon, contamination pétrolière récente.

Arcachon

L'étude porte sur deux espèces prélevées en avril 1985. Ciona intestinalis (fig. 4) contient des n-alcanes entre C 16 et C 39. Le spectre est caractéristique d'une contamination pétrolière récente car les hydrocarbures sont peu dégradés (C 17/pristane = 3; C 18/phytane = 2,8; CPI voisin de 1). La contamination en aliphatiques (n + iso-alcanes) s'élève à

28 ppm. Ascidiella aspersa présente un spectre tout à fait analogue indiquant également une contamination récente. Comme à Saint-Servan, cette espèce contient en outre des hydrocarbures biogéniques entre C 31 et C 36. Les rapports C 17/PR = 10 et C 18/PH = 2,6 confirment que les hydrocarbures présents contaminants sont peu dégradés. La teneur en aliphatiques résolus atteint 35 ppm. Chez les deux espèces étudiées une contamination pétrolière est mise en évidence. Contrairement aux autres sites retenus, cette contamination est récente chez les individus examinés. Elle est de même ordre de grandeur que dans les animaux prélevés à Saint-Servan (30-35 ppm).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les espèces d'ascidies étudiées sont de bons indicateurs pour l'étude des hydrocarbures, comme nous l'avions déjà signalé (OUDOT et al., 1981). En effet, les échantillons provenant d'Urbino ne contiennent que des traces d'hydrocarbures biogéniques, confirmant bien que cette zone peut être considérée comme un site propre de référence. Tous les autres échantillons contiennent des hydrocarbures caractéristiques de produits pétroliers. A Arcachon, la contamination pétrolière était récente ; dans les autres stations, les produits pétroliers sont très dégradés. Les hydrocarbures persistants et tout particulièrement les stéranes et les triterpanes sont d'excellents indicateurs pour le suivi à long terme des contaminations (OUDOT et al., 1981). Un tel type de contamination est représentatif de la contamination résiduelle chronique observée à proximité des zones d'utilisation de produits pétroliers lourds : pétroles bruts et fuels.

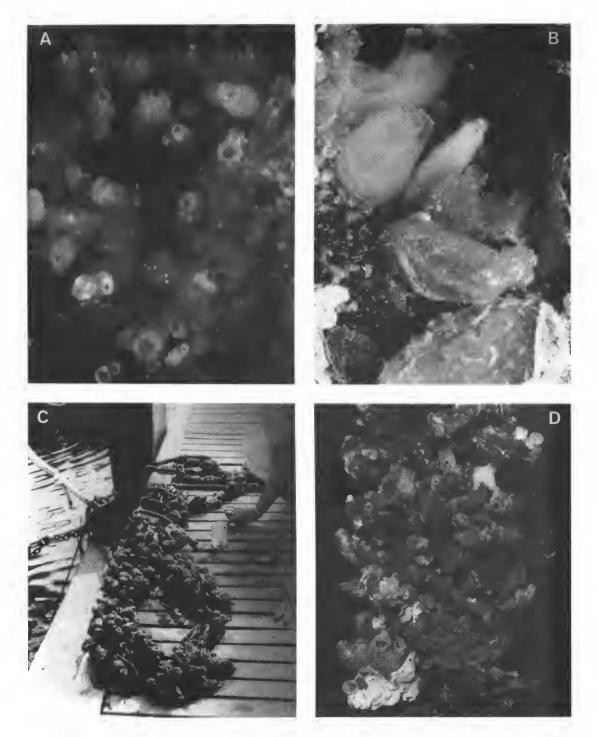
La contamination la plus forte est observée à Porto-Vecchio. Elle est moins élevée à Saint-Servan et Arcachon et encore moins à Lézardrieux.

En conclusion, les ascidies sont d'excellents indicateurs biologiques pour les hydrocarbures et tout particulièrement l'espèce *Ciona intestinalis* qui ne contient pratiquement pas d'hydrocarbures biogéniques interférents.

CONCLUSION

Différents types d'indicateurs biologiques ont été utilisés en milieu marin jusqu'à présent, soit pour caractériser des milieux ou des conditions écologiques particulières, soit pour mettre en évidence des pollutions diverses. Dans ce dernier cas, plusieurs groupes d'animaux ont été employés : Polychètes, Amphipodes, mais le plus souvent les mollusques. Cette préférence provient à la fois des caractéristiques de ces animaux mais aussi du fait qu'ils sont comestibles ; faisant l'objet d'une surveillance permanente, leurs caractéristiques sont mieux connues. Mais ils présentent aussi des inconvénients.

Dans ce travail, nous avons voulu attirer l'attention sur la valeur tout à fait particulière des ascidies comme indicateurs biologiques aussi bien en ce qui concerne les teneurs en métaux des eaux et des sédiments que les teneurs en résidus pétroliers. Les espèces choisies ne sont pas comestibles mais se développent dans des milieux très variés. Là où les mol-



Pl. 1. — Ascidies en milieux aménagés : A, Ciona sous un ponton flottant à Saint-Servan ; B, Ciona et Ascidiella sur une laminaire elle-même fixée sous un ponton à Saint-Servan ; C, Styela sur une corde d'amarrage à Saint-Raphaël ; D, ascidies diverses sur des huîtres cultivées en suspension à Urbino.

lusques survivent difficilement, elles sont capables de supporter des conditions très défavorables à la survie de la majorité des groupes animaux.

Les ascidies étant fixées, ayant un régime alimentaire filtreur et vivant plusieurs années, elles ont l'avantage de pouvoir montrer à la fois une pollution survenant au moment de la collecte grâce à l'analyse du contenu digestif, ce qui est facilement réalisable, mais aussi une pollution plus ancienne par l'accumulation des déchets dans les tissus.

Non seulement les éléments dissous dans l'eau se retrouvent dans les ascidies, mais aussi des éléments du sédiment ou déposés à leur surface, aussi bien que des particules en suspension, vivantes ou inertes. Ces animaux permettent donc, avec un seul prélèvement, d'obtenir une image très complète de la station, instantanée et passée.

Les chiffres qui figurent dans ce travail permettent dans une première approche de montrer que, si chaque espèce a des caractéristiques propres, toutes les ascidies sont de bons indicateurs biologiques, *Ciona intestinalis* étant tout spécialement favorable aux analyses de métaux et d'hydrocarbures. Les résultats obtenus à différentes saisons dans une même station sont de même ordre pour une même espèce quand les conditions du milieu n'ont pas changé. Ils ne dépendent donc pas d'un métabolisme variable (saison de reproduction, d'engraissement, etc.). Des populations d'adultes sont d'ailleurs présentes toute l'année. Enfin, les quantités d'animaux pouvant être utilisés sont toujours importantes dans toutes les zones dites « aménagées », que ce soit en recouvrement direct comme sur les pontons (pl. I, A) ou les cordes d'amarrage (pl. I, C) dans les ports de plaisance, ou en épibiose sur des organismes couvrant les substrats solides : les laminaires, par exemple, dans la Manche (pl. I, B) ou les mollusques en culture dans les étangs de Méditerranée (pl. I, C).

Les données de la littérature comparant les invertébrés aux ascidies montrent que ce groupe a une aptitude particulière pour stocker les métaux. Dans sa revue, en 1976, BRYAN donne des teneurs prises dans la littérature (tabl. VIII), mais elles proviennent évidemment de localités très diverses et ne sont que des indications pour le groupe. Notre étude montre combien les teneurs en certains métaux dépendent des conditions locales.

Le cosmopolitisme de certaines espèces d'ascidies (dont celles choisies pour ce travail) pourrait permettre de comparer des milieux extrêmement éloignés et d'établir des modèles utilisables dans tous les milieux marins, qu'ils soient naturels, aménagés, ou totalement artificiels comme les circuits de refroidissement utilisant l'eau de mer de certaines industries.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMIARD-TRIQUET, C., C. METAYER & J. C. AMIARD, 1984. Technical recommendations for studying the biogeochemical cycle of trace metals. *Revue int. Océanogr. méd.*, 53-54: 27-34.
- BRYAN, G. W., 1976. Heavy metal contamination in the sea. *In*: Marine Pollution. Academic Press, R. Johnston ed.
- Farrington et al., 1985. 1CES/1OC intercomparison exercises on the determination of petroleum hydrocarbons in biological tissue (mussel homogenate). 7th Meeting of the marine chemistry working group, 1CES. 25-28 feb. 1895. Copenhague.
- GENDRON, F., N. VICENTE & Ph. ROBERT, 1984. Impact des métaux lourds sur des filières à moules expérimentales de pleine eau dans le parc national de Port-Cros (Var, France). *Haliotis*, 14: 131-141.

- HAX-NIENCHESKI, L. F., 1982. Utilisation de *Mytilus galloprovincialis* comme indicateur de pollution du littoral méditerranéen français par les composés organochlorés et les métaux lourds. Thèse Pharmacie 3^e cycle, Université Aix-Marseille.
- HENZE, M., 1911. Untersuchungen über das Blüt der Ascidien 1 Die Vanadium bildung der Blüt koporchen. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, 72: 494-501.
- Longère, P., D. Dorel & J. Marin, 1972. Étude bathymétrique et sédimentologique des étangs de Diane et d'Urbino en Corse. Revue Trav. Inst. (scient. tech.) Pêch. marit., 36 (1): 31-45.
- MILLAR, R. H., 1969. Ascidies. *In*: Catalogue des principales salissures marines. Paris. OCDE. 4: 1-34.
- Monniot, C., 1970. Sur quatre ascidies rares ou mal connues des côtes de la Manche. *Cah. Biol. mar.*, 11: 145-152.
 - 1981. Apparition de l'ascidie Microcosinus exasperatus dans les ports méditerranéens. Tethys, 10 (2): 59-62.
- Monniot, C., & F. Monniot, 1983. Navigation ou courants? La colonisation des Açores et des Bermudes par les ascidies (Tuniciers benthiques). *C. r. somm. Séanc. Soc. Biogéogr.*, **59** (1) : 53-58.
- Monniot, C., & F. Monniot, 1985. Apparition de l'ascidie *Perophora japonica* sur les côtes et dans les ports de la Manche. *C. r. somm. Séanc. Soc. Biogéogr.*
- Monniot, F., 1979a. Connaissances actuelles sur les ions métalliques chez les ascidies. *Actual. Biochim. mar.*, Colloque GABIM, 1978, La Rochelle : 185-194.
 - 1979b. Mise en évidence d'un filtre micropore naturel chez les Ascidiacea. C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, D, 289 (13): 727-729.
 - 1979c. Microfiltres et ciliatures branchiales des ascidies littorales en microscopie électronique. Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris, 4e sér., 1 A (4): 843-859.
 - 1979d. Structures ciliaires assurant le cheminement du film de mucus sur la paroi interne du sac branchial des ascidies stolidobranches, exemple Molgula pulchra. In: Microscopie électronique à balayage méthode d'exploration en biologie. Arnette éd. Paris: 111-114.
 - 1984. Le rôle des ascidies comme indicateurs biologiques. Actes du Colloque Indices biologiques. 15-17 nov. 1983. Ministère de l'Environnement Milieu marin.
- Oudot, J., 1984. Rates of microbial degradation of petroleum components as determined by computerized capillary gas chromatography and computerized mass-spectrophotometry. *Mar. Environ. Res.*, 13: 277-302.
- Oudot, J., P. Fusey, M. Van Praet, J. P. Feral, & F. Gaill, 1981. Hydrocarbon weathering in seashore invertebrates and sediments over a two years period following the Amoco-Cadiz oil spill: influence of microbial metabolism. *Envir. Pollut.*, A, 2: 93-110.
- Papadopoulou, C., & G. D. Kanias, 1977. Tunicate species as marine pollution indicators. *Mar. Pollut. Bull.*, 8: 229-331.
- RIMBAULD, R., 1984. La conchyliculture en Méditerranée française. Haliotis, 14: 1-22.
- RÉSEAU NATIONAL D'OBSERVATION DE LA QUALITÉ DU MILIEU MARIN, 1984. N° 20, Résultats des contrôles : Colonne d'eau (statistiques du 2^e semestre 1982) Matière vivante (2^e trimestre 1982) Métaux dans la matière vivante : présentation synthétique 1979-1982.